



Pengaruh Pencelupan Ekstrak Daun Sirih Temurose (*Piper betle linn*) terhadap Mortalitas dan Histopatologi Ginjal Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*

The Effect of Dyeing Piper betle linn Extract to Mortality And Histopathology Kidney Of Carp Which It Was Infected By Aeromonas hydrophila Bacteria

Istikhanah, Sarjito*), Slamet Budi Prayitno

Program Studi Budidaya Perairan, Jurusan Perikanan
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro
Jl. Prof Soedarto Tembalang – Semarang, Jawa Tengah – 50275, Telp/Fax. +6224 7474698

ABSTRAK

Aeromonas hydrophila merupakan salah satu penyebab penyakit bercak merah atau *Haemorrhagic Septicaemia* pada ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang saat ini menjadi permasalahan serius dalam budidaya. Salah satu bahan alami yang dapat digunakan untuk pengobatan penyakit *aeromonas* adalah ekstrak daun sirih temurose (*Piper betle linn*). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penggunaan ekstrak daun sirih temurose terhadap mortalitas dan histopatologi ikan mas yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Penelitian ini dilakukan dalam dua tahap uji, yaitu uji in vitro dan uji in vivo. Pada uji in vivo metode yang digunakan adalah eksperimen laboratoris dengan menggunakan 4 perlakuan yaitu 0 ppm, 800 ppm, 900 ppm, 1000 ppm. Ikan terlebih dahulu diinfeksi dengan cara menyuntikkan 0,1 ml suspensi *Aeromonas hydrophila* sebanyak $\pm 10^7$ cfu/ml secara intramuskular. Setelah menunjukkan gejala klinis, ikan mas direndam dalam ekstrak sirih temurose selama 5 menit yang dilakukan pengulangan 2 kali. Parameter yang diamati adalah gejala klinis, mortalitas dan histologi ginjal dan ikan mas. Hasil penelitian menunjukkan bahwa gejala klinis ikan mas yang terinfeksi *A. hydrophila* diantaranya respon pakan menurun, berenang disekitar aerasi, terdapat luka dan daging ikan rusak (nekrosis). Hasil uji in vivo memberikan pengaruh yang berbeda nyata ($p < 0.05$) terhadap mortalitas ikan mas. Konsentrasi yang paling baik adalah 800 ppm ($27.29 \pm 15.34\%$), kemudian diikuti perlakuan dengan konsentrasi 900 ppm ($37.26 \pm 3.41\%$), konsentrasi 1000 ppm ($46.07 \pm 22.08\%$) and 0 ppm ($83.86 \pm 10.64\%$). Hasil pengamatan histologi ginjal pada ikan mas menunjukan bahwa pada perlakuan 0 ppm terjadi nekrosis, degenerasi, dan pada perlakuan 800 ppm, 900 ppm dan 1000 ppm terjadi degenerasi.

Kata kunci: Sirih temurose; *Aeromonas hydrophila*; Mortalitas; Histopatologi ginjal

ABSTRACT

Aeromonas hydrophila is a causative agent of *Haemorrhagic Septicemia* on carp which now become a serious problem in fish culture. One of natural materials that can be used to treat disease caused by *A. hydrophila* is of betel leaf extract (*Piper betle linn*). The aims of this research were to investigate the effect of betel leaf extract on mortality of carp infected by *A. hydrophila* and to determine the best dosage to reduce mortality and histopathology of infected carp. This research was performed by two set of experiments which were in vitro and in vivo study. Dilution method was used in vitro study by 4 different concentration of betel leaf extract which were 0 ppm, 800 ppm, 900 ppm and 1000 ppm. Firstly fish was injected through intramuscularly with 0,1 ml *A. hydrophila* bacterial suspention of 10^7 cfu/ml. When the clinical signs were appeared, fish was immersed in various betel leaf extract concentration for 5 minutes and replicated twice. The variables observed were clinical sign, mortalitas, histology of study liver and kidney carp. The results showed Clinical sign of infected carps were swimming abnormally close to aeration, wounds, and haemorrhagi in skin and ulcer make necrosis. In vivo study, betel leaf extract with different concentrations and immersed 5 minutes that given was showed significantly different for the mortality of the carp. The best concentration was 800 ppm ($27.29 \pm 15.34\%$), followed by 900 ppm ($37.26 \pm 3.41\%$), 1000 ppm ($46.07 \pm 22.08\%$) and 0 ppm ($83.86 \pm 10.64\%$) respectively. The results of kidney histology observation showed 0 ppm degeneration and necrosis, 800 ppm, 900 ppm and 1000 ppm also showed degeneration.

Keywords: *Piper betle linn*, *Aeromonas hydrophila*, Mortality, histopathology kidney

*) Corresponding author : sarjito_msdp@yahoo.com



PENDAHULUAN

Motile Aeromonas Septicemia (MAS) merupakan salah satu penyakit yang disebabkan oleh *A. hydrophila*. Bakteri ini merupakan jenis bakteri yang bersifat patogen sehingga dapat menyebabkan kematian benih sampai 90% (Kabata, 1985). Tahun 1984 di Jawa Tengah terjadi wabah penyakit MAS sehingga menyebabkan ikan lele mati sebanyak 1,6 ton (Angka, 2001). Selain itu pada tahun 2005 juga terjadi kasus kematian ikan gurami yang mengakibatkan kematian sekitar kurang lebih 47 ton gurami konsumsi (Djarija, 2007).

Pengobatan penyakit *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS) selama ini menggunakan antibiotik, padahal penggunaan antibiotik menyebabkan resisten mikroorganisme patogen, dan terjadinya akumulasi residu antibiotik dalam tubuh ikan (Wang dan Silva, 1999). Berdasarkan hal tersebut maka perlu digunakan bahan-bahan alami, karena selain berfungsi sebagai antimikroba, bahan alami juga dapat meningkatkan kekebalan tubuh ikan. Salah satu bahan alami yang dapat digunakan sebagai obat adalah ekstrak daun sirih temurose. Ekstrak sirih teh teridentifikasi mengandung flavonoid, tanin, steroid dan triterpenoid yang bersifat antibakteri (Ningrum, 2009). Hasil penelitian Mulia dan Maryanto (2012) menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih dapat menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* secara in vitro, dan berfungsi sebagai antimikroba terhadap *Rhizoctonia* sp. (Achmad dan Suryana, 2009). Berdasarkan informasi tersebut maka sangat menarik dilakukan penelitian untuk mengkaji efektivitas ekstrak daun sirih temurose terhadap mortalitas dan histopatologi ginjal pada ikan mas yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*.

MATERI DAN METODE

Metode penelitian ini dilakukan secara eksperimental yang menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan dengan 3 ulangan dan 4 perlakuan. Uji *invitro* dilakukan untuk mendasari uji *invivo*. Berdasarkan uji *invitro* konsentrasi ekstrak sirih temurose yang digunakan adalah 0 ppm, 800 ppm, 900 ppm, dan 1000 ppm.

Ikan uji yang digunakan adalah ikan mas (*C. carpio*) \pm 8 yang berasal dari petani ikan Ngrajek, Magelang. Isolat *A. hydrophila* merupakan koleksi Sarjito *et al.*, (2013). Bahan penunjang lainnya yang digunakan meliputi pakan komersil, aquadest, daun sirih temurose, PBS (*Phospat buffer salint*), aquarium, alkohol.

Proses pembuatan ekstrak daun sirih temurose mengacu pada Depkes (2000) yaitu infundasi. Infundasi adalah pembuatan ekstrak dengan cara serbuk daun sirih temurose dipanaskan dalam pelarut akuades pada suhu penangas air 90°C selama 15 menit sambil sekali-sekali diaduk, selanjutnya dilakukan penyaringan dengan menggunakan kain sehingga dihasilkan ekstrak yang berwarna hijau pekat.

Uji *invitro* dilakukan dengan mengacuh Volk and Wheeler (1993) yaitu merendam kertas cakram dalam larutan ekstrak sirih temurose selama 25 menit, kertas cakram yang telah direndam diletakkan di atas permukaan media bakteri dengan pinset dan ditekan sedikit kemudian diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 25°C dalam inkubator. Pembacaan zona hambat dilakukan setelah 24 jam dari waktu inkubasi, diameter zona hambatan yang terbentuk kemudian diukur dengan jangka sorong

Uji *invivo* dilakukan dengan cara menginfeksi *A. hydrophila* pada ikan mas di intra muscular sebanyak 0,1 ml dengan kepadatan bakteri 10^7 CFU/ml. Ikan mas yang sudah menunjukan gejala klinis kemudian direndaman dengan ekstrak daun sirih temurose selama lima menit dan dilakukan dua kali yaitu ke 2 dan ke 4. Parameter yang diamati adalah gejala klinis, mortalitas, histopatologi ginjal ikan mas.

HASIL DAN PEMBAHASAN

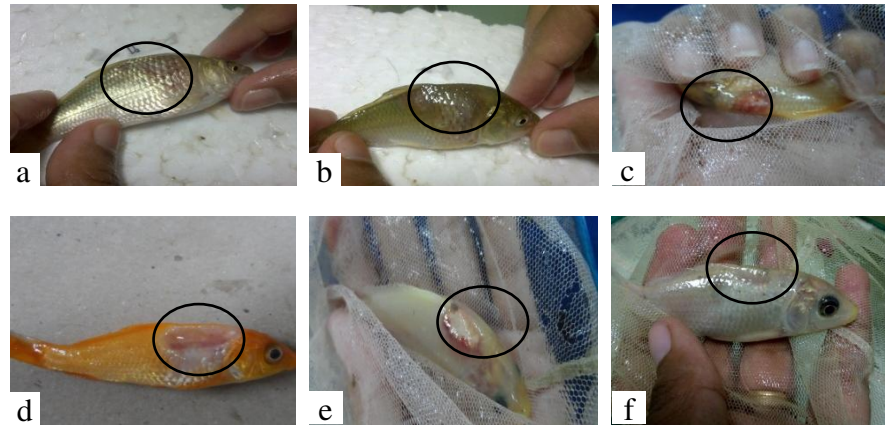
Hasil

Zona hambat yang terbentuk dari uji invitro adalah terbentuk zona bening disekitar kertas cakram. Zona hambat tersebut selengkapnya tersaji pada tabel 1.

Tabel 1. Pengaruh ekstrak sirih temurose terhadap zona hambat *A. hydrophila*

Konsentrasi (ppm)	Zona hambat (mm)
0	0
300	2
500	3
800	6.75
900	7.50
1000	7.75
1500	8.75

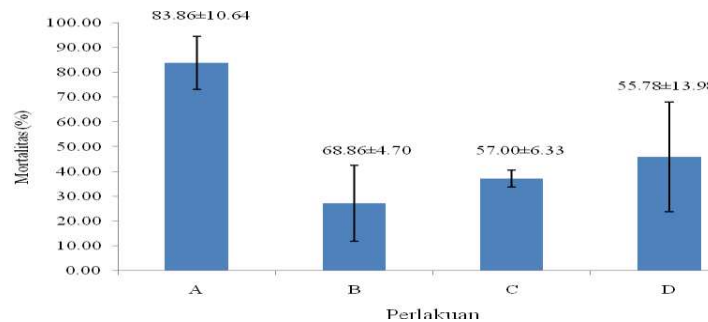
Gejala klinis ikan mas pasca infeksi *A. hydrophila* ditandai dengan terjadinya perubahan tingkah laku, seperti ikan lebih sering bergerombol disekitar di aerasi, respon terhadap pakan rendah. Selain perubahan tingkah laku, ikan mas juga mengalami perubahan morfologi seperti produksi lendir berlebihan, terjadi peradangan dan luka di daerah bekas suntikan (Gambar 1).



Gambar 1. Perubahan morfologi Ikan Mas

Keterangan : (a) Inflamasi, (b) Ulcer, (c) Haemoragi, (d) Daging membusuk, (e) Ulcer pecah, (f) Ulcer mengecil

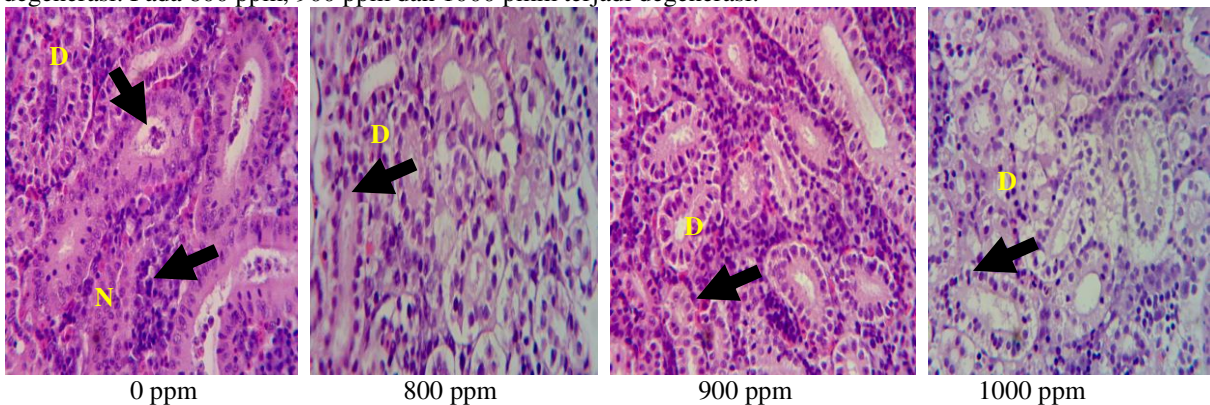
Perubahan morfologi ikan mas pasca infeksi *A. hydrophila* secara umum adalah munculnya warna kemerahan di bekas suntikan yang disusul peradangan (Gambar 1a) dan selanjutnya menjadi luka yang terbuka (ulcer) (Gambar 1b) kemudian berlanjut keluarnya darah (hemoragi) pada daerah luka tersebut (Gambar 1c) dan berlanjut daging rusak dan membusuk (Gambar 1d) dan pada akhirnya menyebabkan kematian. Sedangkan pasca pencelupan ekstrak sirih temurose ikan mas tidak bergerombol lagi disekitar aerasi, respon pakan mulai meningkat dan luka pada ikan mas mulai mengering yang ditandai dengan mengecilnya luka pada luka (1f).



Gambar 3. Grafik mortalitas ikan mas

Berdasarkan gambar 3 menunjukkan bahwa mortalitas ikan mas terendah terjadi pada perlakuan B yaitu 27.29% dan mortalitas tertinggi pada perlakuan 0 ppm yaitu sebesar 83.86%, diikuti perlakuan 1000 ppm sebesar 46.07% dan perlakuan 900 ppm sebesar 37.26%. Berdasarkan hasil tersebut maka dilakukan analisis ragam untuk mengetahui tingkat perbedaan pada masing-masing perlakuan. Hasil perhitungan analisis ragam mortalitas pada akhir penelitian menunjukkan bahwa penggunaan ekstrak sirih temurose melalui metode pencelupan berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap mortalitas ikan mas pascainfeksi.

Hasil pengamatan histologi ginjal pada ikan mas terlihat bahwa pada 0 ppm terjadi nekrosis, dan degenerasi. Pada 800 ppm, 900 ppm dan 1000 ppm terjadi degenerasi.



Gambar 4. Histologi ginjal ikan mas (*C. carpio*) dengan pewarnaan H-E (Perbesaran 400x)

Keterangan : C (Kongesti), D (Degenerasi), N (Nekrosis).



Pembahasan

Hasil uji *invitro* (tabel 3) pada perlakuan D menghasilkan zona hambat terbesar jika dibandingkan perlakuan 900 ppm, 800 ppm dan 0 ppm. Perbedaan zona hambat terbesar terjadi dikarenakan semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun sirih temurose maka semakin tinggi zat-zat aktif yang terkandung didalamnya sehingga mampu menghambat pertumbuhan bakteri akibatnya zona hambat yang terbentuk luas. Nursal (1998) menyatakan bahwa dengan konsentrasi ekstrak yang semakin tinggi maka kemampuan antibakterinya semakin tinggi sehingga zona hambat yang terbentuk semakin besar. Davis (2005) juga menjelaskan bahwa zona hambat lebih 20 mm berarti sangat kuat, zona hambat 10-20 mm berarti kuat, zona hambat 5-10 mm berarti sedang dan zona hambat 0-5 berarti lemah.

Zona hambat yang terbentuk pada uji *invitro* terjadi karena adanya senyawa aktif seperti minyak atsiri yang terkandung dalam ekstrak sirih temurose. Suppakul *et al.*, (2006) menyatakan bahwa ekstrak daun sirih mengandung minyak atsiri, dimana zat tersebut bersifat antibakteri. Pertanyaan tersebut juga dibenarkan oleh Hasin (2003) bahwa aktivitas minyak atsiri sebagai antibakteri ditandai dengan zona hambat yang tidak lagi ditumbuhi bakteri. Sarjito (2010) juga menambahkan bahwa obat yang bersifat antibakteri akan menghentikan pertumbuhan bakteri sehingga sekitar kertas cakram akan terlihat zona bening.

Hasil uji *invitro* menunjukkan bahwa kemampuan ekstrak sirih temurose dalam menghambat *A. hydrophila* bersifat bakteriosidal. Hal ini diketahui dari daerah hambatan disekitar kertas cakram yang tetep jernih (tidak ditumbuhi bakteri) dan mempunyai lebar daerah hambatan yang tetep setelah diinkubasi selama 48 jm. Pelczar dan chan (1988) menyatakan bahwa suatu obat dikatakan bakteriostatik jika bahan yang digunakan dapat menghambat pertumbuhan bakteri, sedangkan apabila bahan tersebut mematikan bentuk-bentuk vegetatif bakteri maka bahan tersebut bersifat bakteriosidal.

A. hydrophila merupakan bakteri yang bersifat pathogen, hal ini terlihat dari hasil pengamatan pasca penginfeksi *A. hydrophila* pada ikan mas yang menyebabkan terjadinya perubahan tingkah laku seperti rendahnya respon pakan, ikan sering bergerombol disekitar di aerasi. Menurut Inglis (1993) gejala klinis yang menyebabkan perubahan tingkah laku ikan seperti ikan berenang dipermukaan air, nafsu makan menurun merupakan akibat ikan mengalami stres. Affandi dan Tang (2002) menjelaskan bahwa ciri-ciri ikan yang stres adalah selalu berada di permukaan air dengan posisi vertikal. Gejala klinis pada ikan yang terinfeksi *A. hydrophila* juga dilaporkan Rahman (2008) bahwa ikan berenang disekitar batu aerasi dan menjadi lemah. Selain itu Kabata (1985) menyatakan bahwa menurunnya respon makan pada ikan merupakan salah satu gejala klinis ikan yang terinfeksi *A. hydrophila*. merupakan salah satu organ target *A. hydrophila*, dimana terganggunya dapat berpengaruh terhadap proses metabolisme tubuh (Cipriano *et al.*, 1984). Miyazaki (1984) menjelaskan bahwa penurunan respon reaksi terhadap rangsang seperti respon ikan terhadap pakan lemah, ikan berenang tidak beraturan dan terjadinya perubahan warna kulit merupakan gejala klinis ikan yang terinfeksi oleh bakteri pathogen. Kabata (1985) menjelaskan bahwa *A. hydrophila* merupakan jenis bakteri yang pathogen yang dapat menyebabkan kematian benih sampe 90%.

Perubahan morfologi yang terjadi pada ikan mas pasca penginfeksi *A. hydrophila* adalah timbulnya radang sehingga menyebabkan luka. Hari kedua luka melebar menjadi borok (*ulcer*) sehingga menimbulkan pendarahan (haemoragi) dan jika tidak dilakukan pengobatan maka akan menyebabkan daging ikan menjadi rusak (nekrosis) dan membusuk. Pernyataan tersebut juga dilaporkan Kabata (1985), gejala awal ikan yang terinfeksi *A. hydrophila* adalah kulit berwarna pucat sehingga menyebabkan luka yang kemudian luka pada kulit dapat bertambah parah sampai ke dalam otot sehingga akan berkembang menjadi tukak dan dapat bertambah parah hingga tulang terlihat. Angka (2001) menyatakan bahwa *A. hydrophila* merupakan bakteri pathogen yang memproduksi eksotoksin berupa hemolisin, protease, elastase, lipase, sitotoksin, enterotoksin, gelatinase, kaseinase, lecithinase dan leucocidin. Hemolisin merupakan enzim yang mampu melisis sel-sel darah merah dan membebaskan hemoglobin sehingga banyak darah yang keluar melewati luka pada permukaan tubuh yang terinfeksi. Efek eksotoksin yang berkelanjutan akan menyebabkan semakin banyak sel-sel pada jaringan otot mati, sehingga akan nampak gejala klinis berupa kerusakan daging pada permukaan tubuh. Protease adalah enzim proteolitik yang berfungsi untuk melawan pertahanan tubuh inang untuk berkembangnya penyakit dan mengambil persediaan nutrient inang untuk berkembangbiak (Angka, 2001). Lecithinase adalah enzim yang menghancurkan berbagai sel jaringan dan terutama aktif melisis sel-sel darah merah, sedangkan leucocidin adalah enzim yang dapat membunuh sel-sel darah putih (Pleczar dan Chan 1988). Selain eksotoksin, *A. hydrophila* juga memproduksi endotoksin berupa Lipopolisakarida (LPS) dapat menyebabkan peradangan (Syamsir, 2008). Menurut Sartika (2011), enzim-enzim *A. hydrophila* dapat menyebabkan kerusakan pada permukaan tubuh yang terinfeksi karena pada jaringan otot dan saluran darah terdapat banyak kandungan protein.

Pasca pencelupan dengan ekstrak sirih temurose, gejala klinis tingkah lau pada ikan mas terlihat lebih baik seperti ikan tidak sering lagi bergerak di daerah aerasi, respon pakan mengalami peningkatan, namun gejala klinis morfologi seperti *ulcer* belum menunjukkan *recovery* sehingga di hari keempat pada masa pemeliharaan dilakukan pencelupan ulang dengan ekstrak sirih temurose. Pasca pencelupan yang kedua, ikan mas pada hari ketujuh terlihat telah terjadi *recovery* seperti menutupnya luka dan luka ikan menjadi mengecil (1e dan 1f).



Proses *recovery* pada ikan mas yang diinfeksi *A. hydrophila* terjadi karena adanya kandungan zat aktif pada ekstrak daun sirih temurose. Menurut Sastroamidjojo (1997), daun sirih mengandung 4,2 % minyak atsiri yang sebagian besar terdiri dari Chavicol paraallyphenol turunan dari Chavica betel. Isomer Euganol allypyrocatechine, Cineol methyl euganol dan Caryophyllen, kavikol, kavibekol, estragol, terpinen. Selain itu didalam ekstrak daun sirih juga mengandung flavanoid, steroid, triterpenoid dan tannin (Ningrum, 2009). Senyawa tannin bersifat sebagai antiseptik pada luka permukaan, bekerja sebagai bakteriostatik yang biasanya digunakan untuk infeksi pada kulit, mukosa dan melawan infeksi pada luka (Mursito, 2002). Tannin merupakan senyawa polifenol yang diduga dapat mengerutkan dinding sel atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas sel itu sendiri. Akibat terganggunya permeabilitas, sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati (Ajizah, 2004). Flavanoid selain berfungsi sebagai bakteriostatik juga berfungsi sebagai anti inflamasi. Flavanoid yang bersifat lipofilik mempunyai kemampuan akan merusak membran sel mikroba (Asti, 2009). Rusaknya membran dan dinding sel akan menyebabkan metabolit penting di dalam sel akan keluar, akibatnya terjadi kematian sel. Senyawa kavikol dan kavibetol yang merupakan turunan dari fenol yang mempunyai daya antibakteri lima kali lipat dari fenol biasa terhadap *A. hydrophila* (Kartasapoetra, 1992). Cara kerja fenol dalam membunuh mikroorganisme yaitu dengan cara mendenaturasi protein sel sehingga protein tidak dapat melakukan fungsinya dan sel bakteri akan mengalami kematian (Pelczar dan Chan, 1988). Selain itu senyawa fenolik dapat merusak membrane sitoplasma yang menyebabkan bocornya metabolit penting dan menginaktifkan system bakteri. Kerusakan pada membrane ini menyebabkan nukleotida dan asam amino merembes keluar sel. Selain itu kerusakan tersebut dapat mencegah masuknya bahan-bahan penting kedalam sel, karena membrane sitoplasma juga mengendalikan pengangkutan aktif ke dalam sel. Hal ini yang menyebabkan kematian sel bakteri atau menghambat pertumbuhan bakteri (Volk dan Wheeler, 1998).

Hasil pengamatan histologi ginjal (Gambar 4) terlihat bahwa perlakuan 0 ppm terlihat terjadinya degenerasi dan nekrosis, sedangkan pada 800 ppm, 900 ppm dan 1000 ppm terjadi degenerasi. Kerusakan yang terjadi pada struktur ginjal merupakan akibat dari enzim eksotoksin yang diproduksi dari *A. hydrophila* sehingga menyebabkan disfungsi di ginjal seperti glomerulus yang dapat ditembus oleh protein sehingga menyebabkan terjadinya degenerasi protein (Gambar 4). Ressay (1963) menjelaskan bahwa disfungsi yang terjadi pada glomerulus adalah terjadinya infiltrasi sehingga menyebabkan kerusakan pada tubulus. Takashima dan Hibiya (1982) juga menjelaskan bahwa degenerasi merupakan keadaan suatu bahan yang secara tidak normal dalam jaringan, seperti terjadinya degenerasi lemak yang ditandai dengan gumpalan hitam pada ginjal. Perubahan patologis pada ginjal akibat *A. hydrophila* juga dilaporkan Jun *et al.* (2010) bahwa perubahan patologi pada ginjal ikan korean cyprinid loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) yang terinfeksi *A. hydrophila* yaitu degenerasi pada tubulus distal dan pada glomerulus serta jaringan hematopoetik mengalami nekrotik. Yardimci and Yilmaz (2011) juga melaporkan bahwa perubahan patologi yang terjadi pada ginjal ikan nila (*Oreochromis niloticus*) akibat infeksi *A. hydrophila* yaitu hemoragi, hiperemia dan nekrosis pada tubulus distal. Menurut Robert (2001) menjelaskan bahwa infeksi yang diakibatkan *A. hydrophila* menyebabkan terjadinya infiltrasi sel radang meluas pada lapisan epidermis, dan selanjutnya menyebabkan nekrosis epidermis yang diawali oleh kematian sel inti pada mukosa maupun sel klub. Prince dan Wilson (2006) juga menjelaskan bahwa nekrosis merupakan sel-sel yang mempunyai aktivitas yang sangat rendah dan akhirnya mengalami kematian sel jaringan sehingga menyebabkan hilangnya fungsi pada daerah yang mengalami nekrosis.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa :

1. Penggunaan ekstrak sirih temurose memberikan berpengaruh terhadap mortalitas dan histopatologi ikan mas (*C. carpio*) yang diinfeksi *A. hydrophila*
2. Konsentrasi perendaman ekstrak daun sirih temu rose (*Piper betle linn*) yang paling efektif terhadap pengobatan bakteri *A. hydrophila* adalah 800 ppm.
3. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun sirih (*Piper betle linn*) yang diberikan menyebabkan semakin besar diameter zona hambat pada bakteri *A. hydrophila*, tetapi belum tentu konsentrasi tersebut bersifat efektif.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian payung yang dilakukan oleh Dr. Ir. Sarjito, M.App.Sc *et al.* Pada kesempatan kali ini penulis mengucapkan terima kasih kepada Handung Nuryadi S.Kel, dan *Team Disease 2010* seperti Rusyidina, Ferdian, Setyo, Ami, April, Chyntia, Endah, Dian, Yelli, Pungki, Dani, Janah, Rahmi, Lilik, Indah, Nisa dan Bpk Marsudi yang telah membantu dalam penelitian ini. Disampaikan pula terimakasih kepada Kepala Laboratorium Budidaya Perairan, UPT Laboratorium Terpadu Universitas Diponegoro, dan Balai Karantina Ikan Kelas II, Semarang.



DAFTAR PUSTAKA

- Achmad dan I., Suryana. 2009. Pengujian Aktivitas Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle linn*) Terhadap *Rhizoctonia* sp. Secara *In Vitro*. Bul. Littro, 20 (1): Hlm 92-93.
- Ajizah, A. 2004. Sensitivitas Salmonella Typhimurium Terhadap Ekstrak Daun *Psidium guajava*. Bioscientiae, 1 (1): 3-18.
- Angka, S.L. 2001. Studi Karakterisasi dan Patologi *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*). Makalah Falsafah Sains Progam Pasca Sarjana, Institut Pertanian Bogor. Bogor. 17 hlm.
- Asti, R.H. 2009. Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) sebagai Pegobatan Demam Tifoid. (Online) (<http://www.beswandjarum.com/article>) diakses tanggal 10 Januari 2010.
- Cipriano, R.C., G.L. Bullock and S.W. Pyle. 1984. *Aeromonas hydrophila* and Motile *Aeromonad* Septicemia of Fish. Fish Diseases Leaflet 68, US. Fish and Wildlife Service. West Virginia. Hlm 20-23.
- Davis, W.W. and T.R. Stout. 1971. Disc Plate Methods of Microbiological Antibiotic Assay. Microbiology, 4 : 659-665.
- Depkes RI. 2000. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. Jakarta. Hlm 4-3.
- Djariah. 2001. Pembenihan Ikan Mas. Yogyakarta. Kanisius. 78 hlm.
- Hasim, D. 2003. Daun Sirih sebagai Antibakteri Pasta Gigi. <http://kompas.com/kompas-cetak/0309/24/iptek/578008.htm>. [2 Juli 2008].
- Inglis, V., R.J. Roberts and Bromage N.R. 1993. Bacterial Diseases of Fish. Institute of Aquaculture. Balckwell Science: 196 – 210 pp.
- Jun, J.W., J.H. Kim, D.K. Gomez, C.H. Choresca, J.E. Han, P.S. Shin and S.C. Park. 2010. Occurrence of Tetracycline- Resistant *Aeromonas hydrophila* in Korean Cyprinis Loach (*Misgurnus anguillicaudatus*). African Journal of Microbiology Research, 4 (9): 849-855.
- Kabata, Z. 1985. Parasites and Disease of Fish Cultured in the Tropics. Taylor and Francis Press. London, 3 (1): 643-655.
- Kartasapoetra. 1992. Budidaya Tanaman Berkhasiat Obat. Rineka Cipta. Jakarta. Hlm 46-48.
- Loomis, T.A. 1978. Toksikologi Dasar. Penerjemah Donatus. IKIP Semarang Press. Semarang. 102 hlm.
- Miyazaki, T.S., S. Kobota, N. Kaige and T. Miyashita. 1984. Histopathological Study of Streptococcal Disease in Tilapia. Fish Pathology, 19 (3): 167 – 172.
- Mulia, D.S. dan H. Maryanto. 2012. Aktivitas antimikroba ekstrak daun sirih terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila* GPI-04. Laporan Penelitian FIPK. Universitas Muhammadiyah Purwokerto. Purwokerto. 66-67 hlm.
- Mursito, B. 2002. Ramuan Tradisional untuk Penyakit Malaria. PT. Penebar Swadaya. Jakarta. 78-79 hlm.
- Ningrum, C.R. 2009. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air dan Ekstrak Etanol 70% Daun Sirih Hijau (*Piper betle linn.*) dan daun sirih merah (*Piper cf. fragile benth.*) dengan Metode Peredaman Radikal Bebas. FU, Jakarta. 17 hlm.
- Nursal. 1998. Pengaruh Ekstrak Akar *Acanthus ilicifolius* Terhadap Pertumbuhan *Vibrio* sp. Prosiding Seminar Nasionalm IV Ekosistem Mangrove. Pekanbaru 15 – 18 september 1998. Hlm 273-277.
- Pelczar, M.S dan Chan E.S. 1988. Dasar-Dasar Mikrobiologi. Jakarta: Departemen Pertanian Jakarta.
- Prince, S.A. and Wilson, L.M. 2006. Patofisiologi. Edisi VI. (1). EGC. Philadelphia, 2 (1): 873.
- Rahman, M. F. 2008. Potensi Antibakteri Ekstrak Daun Pepaya Pada Ikan Gurami Yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Pertanian Bogor. Bogor 12 hlm.
- Ressang, A. 1963. Buku Pelajaran Patologi Khusus Veterines. IPB. Bogor. 647 hlm.
- Sarjito, 2010. Aplikasi Biomolekuler Untuk Deteksi Agensia Penyebab Vibriosis Pada Ikan Kerapu dan Potensi Bakteri Sponge Sebagai Anti Vibriosis. [Disertasi]. Program Pasca Sarjana, Universitas Diponegoro, Semarang.
- Sartika, Y. 2011. Efektivitas Fitofarmaka dalam Pakan untuk Pencegahan Infeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Lele Dumbo (*Clarias* sp.) Institut Pertanian Bogor. Bogor. 39 hlm
- Sastroamidjojo, S. 1997. Obat Asli Indonesia. Dian Rakyat. Jakarta. Hlm 53-54.
- Suppakul, P., N. Sanla-Ead, and Phoopuritham. 2006. *Antimicrobial and Antioxidant Activities of Betel Oil*. Kasetrat: 263 pp.
- Syamsir E. 2008. Perbedaan Endotoksin dan Eksotoksin. <http://ilmupangan.blogspot.com/2008/04/perbedaan-endotoksin-dan-eksotoksin.htm> [4 Juli 2008].
- Takashima and T. Hibiya. 1982. An Atlas of Fish Histologi Normal anh Pathological Features Kodhansa LTD Gustav Fiscer Verlag Stuttgart, New York: 147 pp.
- Volk, W.A. and M.F. Wheeler. 1988. Mikrobiologi Dasar. Edisi 5. Alih Bahasa. Markham. Erlangga. Jakarta. 712 hlm.



- Yardimci, B. and A. Yimlaz. 2011. Pathological Findings of Experimental *Aeromonas hydrophila* Infection in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). Thesis. Department of Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Ankara. Turkey: 58pp.
- Wang, C.J. and L. Silva. 1999. *Prevalence and characteristics of Aeromonas species isolated from processed channel catfish*. Journal of Food Protection, 3 (1): 456-465.